Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 1, Spring 2023, p. 193-203

Preparation and Production of Nano Capsules of *Aloe vera* Gel Containing *Ziziphora tenuior* L. Essential Oil

T. Baeradeh[1], H. Arouiee[2*], M. Naseri[3], M. Mamarabadi[4]

Received: 23-01-2022 Revised: 22-06-2022 Accepted: 05-07-2022 Available Online: 05-07-2022	**How to cite this article:** Baeradeh, T., Arouiee, H., Naseri, M., & Mamarabadi, M. (2023). Preparation and production of nano capsules of *Aloe vera* gel containing *Ziziphora tenuior* L. essential oil. *Journal of Horticultural Science 37*(1): 193-203. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/jhs.2022.74607.1124

Introduction

Fruits and vegetables are perishable due to high humidity and biological activity after harvesting (breathing, transpiration and biochemical activities). Covering fruits with antimicrobial compounds, while being edible and safe for consumers, is an effective solution to prevent the spoilage of fruits and increase their shelf life. In developing countries, packaging, storage and transportation technologies for these products have not been developed yet. One of the cheap and high-performance methods to increase the shelf life of fruit and maintain its quality during the storage period is to use a coating on the fruit. The purpose of coating application is to reduce water loss, slow aging, polish and better marketing. In addition to improving quality, coating can protect the fruit from pathogens and contamination. Edible coatings create a thin layer on the surface of the food that are effective and eco-friendly alternatives and maintain the firmness of fresh fruits and vegetables. The main components of edible coatings are natural polysaccharides, including starch, cellulose, pectin, alginates and chitosan. These coatings apply by spraying, immersion or rubbing. The use of essential oils and other extracts of medicinal plants has been evaluated in the development of edible coatings.

Adding *Ziziphora tenuior* L. essential oil to food has been considered as an antioxidant and antimicrobial compound. Directly use of essential oils for fruits and vegetable shelf life has some limitations due to low solubility in water, high vapor pressure and physical and chemical instability. One of the ways to reduce these limitations is the nanoencapsulation of essential oil as. Applications of nano technology to the development of edible coatings (included various nanosystems, including polymeric nanoparticles, nanoemulsions), efforts to control the release of essential oils. *Aloe vera* gel, which is extracted from the inner parts of the leaves, is clear, odorless, completely healthy and environmentally friendly and can replace the coverings used after harvesting fruits. This is a polysaccharide gel, it dissolves easily in water and has advantages such as preserving the aromatic substances inside the fruit, covering the wound and cuts and it is possible to add substances such as vitamins and essential oils to this gel. Due to the antibacterial properties of aloe vera, adding aloe vera gel to edible coatings can increase the antibacterial properties of this biodegradable coating. On the other hand, using nano technology can increase the efficiency, consistency and better quality of food coatings.

Materials and Methods

The aim of the present study was to prepare and produce an oral coating of nanoecapsule containing *Ziziphora tenuior* L. essential oil. The components of the nanocapsule of *Aloe vera* gel was water, toewin and

1 and 2- M.Sc Student and Associate Professor, Department of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: aroiee@um.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture, University of Torbat Heydarieh, Torbat Heydarieh, Iran
4- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.74607.1124

Ziziphora tenuior L. essential oil. Fresh *Aloe vera* leaves were used to prepare gel. Zeta-average diameter, particle size distribution, scattering index (PDI) and zeta potential (particle surface charge) were measured. Transmission electron microscopy (TEM) imaging was used to evaluate the morphology of the nanocapsule. The stability of produced nanocapsule was evaluated by measuring the particle size changes for 3 months .

Results and Discussion

21 compounds were identified in the essential oil of *Ziziphora tenuior*. The main and important constituents of *Ziziphora tenuior* L. essential oil were Pulegone, Menthofuran and 1,8-Cineole. The results showed that the particle size of nanocapsule containing essential oil was 84.46 nm and zeta potential was -16.02 mV. The results of transmission electron microscope (TEM) photos showed that the size of the particles is less than 200 nanometers and the shape of the particles is almost spherical. The outer surface of the capsules is completely smooth and uniform. Stability studies of particle size and zeta potential for 3 months showed that nanocapsule containing essential oils had good stability. In this formulation, the zeta potential was about -16 mV, which is due to the non-ionic parts of the surfactant on the surface of the nanocapsule, which contributes to the repulsion force and caused the stability of the size of the nanocapsules. In order to determine the amount of essential oil in the nanocapsule, spectrophotometric method was used. The percentage of essential oil in nanocapsule was 83.25% .

Conclusion

Nanoencapsulation of essential is one of the ways to reduce the limitations of essential oil aplication. In the present study, a nancapsule with natural and biodegradable materials (*Aloe vera* gel) containing *Ziziphora tenuior* L. essential oil was prepared and the results showed that *Ziziphora tenuior* L. essential oil was successfully encapsulated in *Aloe vera* gel. In general, the results of the present study showed that the nanocapsule of *Aloe vera* gel is a suitable carrier for *Ziziphora tenuior* L. essential oil and can be used as an oral coating to preserve fruits and vegetables.

Keywords: Edible coating, Electron microscope, Essential oil, Nano particle, Particle size

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۱، بهار ۱٤۰۲، ص. ۲۰۳-۱۹۳

تهیه و تولید نانو کپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس کاکوتی *Ziziphora tenuior* L.

طیبه باارده[1]- حسین آرویی[2*]- محبوبه ناصری[3]- مجتبی ممرآبادی[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴

چکیده

میوه‌ها و سبزی‌ها به دلیل داشتن رطوبت بالا و فعالیت بیولوژیکی بعد از برداشت (تنفس، تعرق و فعالیت‌های بیوشیمی) فسادپذیرند. پوشش‌دهی میوه‌ها با ترکیبات ضدمیکروبی و در عین حال خوراکی و ایمن برای مصرف‌کنندگان راهکار موثری برای جلوگیری از فساد میوه‌ها و افزایش ماندگاری آن است. تولید این قبیل پوشش‌های خوراکی با بهره‌گیری از فناوری نانو سبب افزایش کارایی مواد تشکیل دهنده پوشش می‌شود. در همین راستا این پژوهش با هدف تهیه و تولید پوشش خوراکی نانوکپسول حاوی اسانس کاکوتی انجام شد. اجزای سازنده فرمولاسیون نانوکپسول، ژل آلوئه ورا، آب، توئین و اسانس کاکوتی بود. جهت شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه گازی کروماتوگرافی GC و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی GC-MS استفاده شد. میانگین اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا، تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوکپسول و میزان پایداری ذرات و درصد کارایی نانوکپسول محاسبه شد. در اسانس گیاه کاکوتی (*Ziziphra tenuior* L.) ۲۱ ترکیب شناسایی شد. ترکیبات اصلی و مهم اسانس کاکوتی شامل پولگون (۶۵/۲۳ درصد)، منتوفوران (۱۲/۷۲ درصد) و ۱و۸- سینئول (۶/۰۱ درصد) بودند. اندازه نانوکپسول حاوی اسانس، ۸۴/۴۶ نانومتر و پتانسیل زتا ۱۶/۰۲- میلی‌ولت بود. براساس نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی، اندازه ذرات کمتر از ۲۰۰ نانومتر بود. سطح خارجی نانوکپسول‌ها کاملاً صاف و یکنواخت بود. درصد انکپسولاسیون اسانس ۸۳/۲۵ درصد محاسبه شد. مطالعات پایداری اندازه ذرات و پتانسیل زتا در مدت ۳ ماه نشان داد که نانوکپسول حاوی اسانس از پایداری خوبی برخوردار بوده است. به طور کلی نتیجه تحقیق حاضر نشان داد نانوکپسول ژل آلوئه ورا حامل مناسبی برای اسانس کاکوتی است و می‌توان به عنوان پوشش خوراکی برای ماندگاری میوه‌ها از آن استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اندازه ذره‌ای، پوشش خوراکی، میکروسکوپ الکترونی، نانو ذرات

مقدمه

میوه‌ها وسبزی‌ها به دلیل داشتن رطوبت بالا و فعالیت بیولوژیکی بعد از برداشت (تنفس، تعرق و فعالیت‌های بیوشیمی) فسادپذیرند (Shahavi *et al.*, 2019). در کشورهای در حال توسعه برای این محصولات فناوری‌های بسته‌بندی و انبارداری و حمل و نقل، هنوز توسعه زیادی نیافته است. یکی از روش‌های ارزان قیمت و با کارایی بالا برای افزایش طول عمر ماندگاری میوه و حفظ کیفیت آن در طول دوره نگهداری استفاده از پوشش بر روی میوه است (Pirhayati *et al.*, 2019) هدف از کاربرد پوشش، کاهش افت آب، کند کردن پیری، جلا دادن و بازاریابی بهتر است. علاوه بر بهبود کیفیت، پوشش می‌تواند میوه را در مقابل پاتوژن و آلودگی محافظت کند. این پوشش‌ها به صورت لایه نازک بر سطح میوه قرار می‌گیرند و نقش مهمی در جلوگیری از کاهش رطوبت محصول، تبادل گاز، حفاظت از ترکیبات فرار، بافت، رنگ میوه‌ها و سبزی‌ها دارند (Del- Valle *et al.*, 2005). مطالعات نشان داده است که بسیاری از اسانس‌ها خواص ضد میکروبی دارند و می‌توانند از میوه‌ها و سبزی‌ها در مقابل عوامل میکروبی پس از برداشت میوه‌ها محافظت کنند (Davidson *et al.*, 2003). طراحی فرمولاسیون مناسب برای استفاده از اسانس‌ها به عنوان پوشش مناسب برای افزایش ماندگاری پس از برداشت

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: aroiee@um.ac.ir)
۳- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربت حیدریه
۴- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
DOI: 10.22067/jhs.2022.74607.1124

میوه‌ها یک چالش بزرگ است زیرا اسانس‌ها شدیداً در برابر شرایط محیطی ناپایدار می‌باشند. مصرف اسانس‌ها به طور کلی به دلیل حلالیت پایین درآب، فشار بخار بالا وناپایداری فیزیکی وشیمیایی با دشواری‌هایی درکاربرد همراه هستند همچنین اسانس‌ها با ایجاد بو و مزه در محصول، خوشایند مصرف‌کنندگان نمی‌باشند. بنابراین امروزه تلاش می‌شود تا اثرات نامطلوب اسانس‌ها کاسته شود. برای رفع این مشکل تحقیقات زیادی در زمینه تکنولوژی‌های ترکیبی انجام شده است درهمین راستا بهترین نتایج از الحاق اسانس‌ها باپوشش‌های خوراکی و زیست تجزیه پذیر وریزپوشانی کردن‌آن‌ها درون نانوکپسول‌ها حاصل شد (Aswathanarayan andVittal , 2019).

ژل آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) که از قسمت‌های داخلی برگ استخراج می‌شود شفاف، بی‌بو، کاملاً سالم و سازگار با محیط زیست است و می‌تواند جایگزین پوشش‌های مورد استفاده در پس از برداشت میوه‌ها شود. این ژل پلی ساکاریدی است، به راحتی در آب حل می‌شود و دارای مزایایی مانند حفظ مواد معطر داخل میوه، پوشش محل زخم و بریدگی است و قابلیت افزودن موادی مثل ویتامین و اسانس به این ژل وجود دارد (Choi and Chung, 2001). به دلیل خواص ضدباکتری آلوئه ورا، افزودن ژل آلوئه ورا در پوشش‌های خوراکی می-تواند موجب خاصیت ضد باکتری این پوشش زیست تجزیه‌پذیر شود. از طرف دیگر می‌توان با استفاده از فناوری نانو، باعث افزایش کارایی، سازگاری و کیفیت بهتر پوشش‌های خوراکی شد. استفاده از ژل آلوئه ورا درگیلاس باعث کاهش میزان تنفس به میزان ۵۰ ٪ طی ۱۶ روز انبارداری سرد به اضافه یک روز در دمای معمولی اتاق شد(Moghimi *et al.*,2016).

رضوی و همکاران (Razavi *et al.*, 2019) در تحقیقی خواص فیزیکی وشیمیائی پوشش نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی را بر ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای بررسی کردند. نتایج بدست آمده نشان داد که کاهش وزن در تیمارهای دارای پوشش نانوامولسیون حاوی اسانس آویشن شیرازی نسبت به شاهدتفاوت معنی‌داری داشتند. در این پژوهش پوشش کربوکسی متیل سلولزحاوی نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی باعث ماندگاری قارچ دکمه‌ای شد وغلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو امولسیون اسانس آویشن شیرازی مناسب‌ترین غلظت ازلحاظ استحکام بافت وسایر موارد بود (Razavi *et al.*, 2019). امروز به منظور اهمیت سلامت مصرف‌کنندگان و حفظ محیط زیست از مواد شیمیایی، پوشش‌های ارگانیک به دست آمده از منابع طبیعی مورد توجه اکثر کشورهای توسعه یافته و همچنین کشور ما قرار گرفته است. با توجه به مطالعات انجام شده و خاصیت ضد میکروبی و زیست سازگاری اسانس گیاه دارویی کاکوتی و ژل آلوئه ورا در این تحقیق پوشش خوراکی نانوکپسول با ژل آلوئه ورا و اسانس کاکوتی تهیه شد و ویژگی‌های آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش

تهیه اسانس

اسانس کاکوتی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت داروسازی باریج اسانس (کاشان- ایران) تهیه شد.

شناسایی ترکیبات اسانس

جهت شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاهای گازی کروماتوگرافی GC و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی GC-MS استفاده شد. مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل GC TRACE ساخت شرکت Finnigan- Thermoquest مجهز به MS با ستون5-DB به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر بود. برنامه ریزی حرارتی آون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۵ درجه در دقیقه انجام گردید. گاز حامل نیتروژن بود (Adams, 2007) پس از تزریق اسانس به دستگاه گاز کروماتوگراف و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس کاکوتی با هگزان نرمال، رقیق و به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی GC/MS تزریق و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام-های مربوط به دست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت (Adams, 2007).

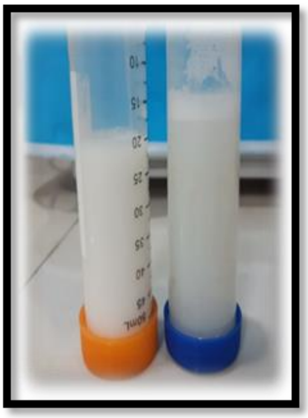
تهیه ژل آلوئه ورا

برای تهیه ژل آلوئه ورا از برگ‌های تازه آلوئه ورا استفاده شد. برگ‌ها با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس با الکل ۷۰ درصد سطح برگ‌ها استریل شدند و نوک، انتها و لبه برگ‌ها بریده و سپس به روش دستی، قسمت میانی برگ به صورت طولی برش داده شده که در نتیجه پوست (اپیدرم) روی برگ‌ها از پالپ وسط برگ که حاوی ژل می‌باشد، جدا شد. ژل‌ها پس از جدا سازی توسط مخلوط کن به خوبی خرد و مخلوط شده تا یکنواخت شدند. مخلوط حاصل از پارچه ململ عبور داده شدند تا مایع ژل آلوئه ورا بدست آمد. در نهایت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه گردید (Aswathanarayan and Vittal, 2019).

تهیه نانوکپسول

فرمولاسیون نانوکپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس کاکوتی شامل ۴ درصد وزنی اسانس، ۵۰ درصد وزنی آلوئه ورا و ۲ درصد توئین ۸۰ (امولسیفایر) بود. ابتدا آب، اسانس، امولسیفایر و ژل آلوئه ورا به طور

جداگانه با توجه به مقدار لازم در محاسبات فرمولاسیون، وزن شـدند. اسانس و توئین ۸۰ در مرحله ورتکس مخلوط گردیـده و پـس از آن، کمی آب مقطر و ژل آلوئه ورا مـورد نیـاز بـه مخلـوط افـزوده شـد و مخلوط حاصل بـا اسـتفاده از همـزن مغناطیسـی (دور ۱۰ و مـدت۴۰ دقیقه) تهیه شد. نانو کپسول اولیـه شـیری رنـگ بـود و سـریعاً درون ظـرف بزرگتـر (حـاوی یـخ) قـرار گرفتـه و ظـرف را زیـر دسـتگاه اولتراسـونیک (Hielscher -UP 400s) پـروبدار بـا فرکـانس۲۴ کیلوهرتز و توان ۴۰۰ وات به صورت پالسی (۰/۵ ثانیـه) بـه مـدت ۷ دقیقه روشن و سپس ۳ دقیقه استراحت و مجدداً ۷ دقیقه روشن قـرار گرفت و نمونه یکنواخت شد (Jafari *et al*., 2013) (شکل ۱).



شکل ۱- نانوکپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس

Figure 1- Nanocapsule of *Aloe vera* gel containing essential oil

آنالیز خصوصیات نانوکپسول

- تعیین اندازه ذره‌ای نانوکپسول و پتانسیل زتا

میانگین قطـر انـدازه ذرات (Z-average)، توزیـع انـدازه ذرات و شاخص پراگندگی چندگانه (PDI) و پتانسل زتا (بار الکتریکـی سـطح ذرات) بـا دسـتگاه Particle size analyzer در دمـای ۲۵ درجـه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. این دستگاه اندازه ذرات را بر حسب تعداد، حجم و شدت بیان می‌کند (Wang *et al*., 2019).

-بررسی مورفولوژی نانوکپسول با میکروسـکوپ الکترونـی بـرای بررسـی مورفولـوژی نانوملسـیون از عکسـبرداری میکروسـکوپ الکترونی عبوری (TEM) استفاده شد. پـس از آمادهسـازی نمونـه از فیلتر سرسرنگی عبورداده شد و نمونه به نسبت ۱ به ۱۰۰ با آب مقطر رقیق شد، سپس ۲۰ ماکرولیتر از نمونـه بـر روی گریـد ۳۰۰ مشـبک کربن کد (پوشش کربن دار) به مدت دو دقیقه قـرار گرفـت و سـپس رنگ آمیزی منفی با اورانیل استات ۲ درصد به مدت دو دقیقـه انجـام شد و نمونه توسط دسیکاتور خلا خشک شـد، پـس از خشـک شـدن، نمونـه زیـر میکروسـکوپ الکترونـی مشـاهده شـد (Wang *et al*., 2019).

تعیین کارایی درون پوشانی

مقدار اسانس انکپسوله شده در نانوکپسول به وسـیله روش شـیخ زاده و همکاران (KarimiSani *et al*., 2019) بـا کمـی اصـلاحات تخمین زده شد. برای انـدازه‌گیـری کـارایی انکپسولاسـیون، ابتـدا ۱ میلی‌لیتر از نمونه به منظور جداسـازی کپسـول‌هـا در دور ۱۳۰۰۰ بـه مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از اینکه تشکیل دو فاز دادند. فاز پایینی از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ عبور داده شد و نمونه با اتانول رقیـق شد. جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی ماوراء بـنفش (درطـول موج ۳۹۹ نانومتر) خوانده شد. اسانس کاکوتی در این طول موج دارای حداکثر جذب است. غلظت‌های متفاوت اسـانس کـاکوتی بـه منظـور رسم منحنی کالیبراسیون اسـتفاده شـدند. محتـوای اسـانس کـل بـا استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

معادله (۱):

EE%= TotalEO- Free EO / Total EO× 100

EE: Efficiency Encapsulation کارایی درون پوشانی

Free EO: Free Essential oil اسانس آزاد

تعیین پایداری نانوکپسول حاوی اسانس

پایداری نانوکپسول‌های تولید شده با اندازه‌گیری تغییرات ذرات و همچنین ظاهر آن‌ها برای مدت ۳ مـاه بررسـی شـدند. بـدین منظـور اندازه ذرات تولید شده در روزهـای اول، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز بـا دسـتگاه Particle size analyzer در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیـری شد.

آنالیز آماری

آنالیز آماری با نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد انجام شد. شکل ها نیـز با نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

شناسایی ترکیبات اسانس کاکوتی

با بررسی اندیس‌های بازداری، طیف‌هـای جرمـی و مقایسـه ایـن پارامترها با ترکیبات استاندارد و تزریق جداگانه برخی از استانداردهای موجود، ۲۱ ترکیب در اسـانس گیـاه کـاکوتی (*Ziziphora tenuior*) شناسایی شد (جدول ۱). ترکیبات اصلی و مهم اسانس کاکوتی شـامل پولگون ۶۵/۲۳، منتوفوران ۱۲/۷۲ و ۱و۸ سینئول ۶/۰۱ درصد بودند.

جدول ۱- ترکیبات اسانس کاکوتی

Table 1- Chemical compositionofessential oil of *Ziziphora tenuior* L.

No ردیف	Components اجزاء اسانس (ترکیبات)	Quantity (%) مقدار (درصد)	RT (min) زمان بازداری
1	α -Pinen	1	6.51
2	Camphene	0.2	7.03
3	β-Phellandrene	0.6	7.73
4	ß-Pinene	1.2	7.92
5	ß-Myrcene	0.3	8.24
6	3-Octanol	0.3	8.54
7	o-Cymene	0.2	9.59
8	Limonene	1	9.73
9	1,8-Cineole	6.01	9.89
10	3-Cyclopentene-1-ethanol, 2,2,4-trimethyl-	3.3	14.78
11	l-Menthone	0.6	15.09
12	Menthofuran	12.72	15.37
13	l-Menthone	0.8	15.49
14	Isoborneol	0.3	15.75
15	cis-Dihydrocarvone	1.5	15.99
16	α-Terpineol	0.2	16.8
17	Pulegone	65.23	18.83
18	Thymol	0.8	21.36
19	3-Methyl-2-(2-methyl-2-butenyl)-furan	0.7	23.16
20	Caryophyllene	0.6	26.37
21	tetrahydro-5H-chromene	1.5	51.82
Total		99.06	

جدول ۲- اندازه ی ذره‌ای و پتانسیل زتا در نانوکپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس کاکوتی

Table 2– Particle size and zeta potential of nanocapsule of *Aloe vera* gel containing *Ziziphora tenuior* L. essential oil

پتانسیل زتا Z-Potential (mv)	شاخص پراکندگی PDI	میانگین اندازه ذره Z-average (nm)
-16.02	0.306	84.46

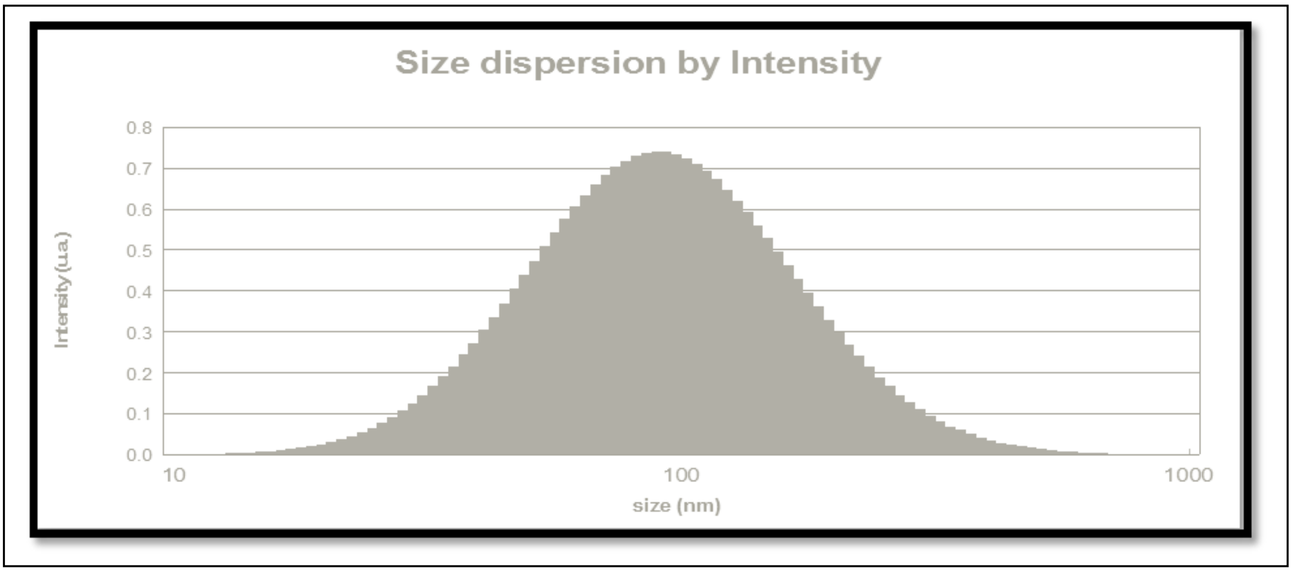
اندازه و توزیع اندازه ذرات

از مهمترین ویژگی مرتبط با کیفیت نانوکپسول، میانگین اندازه ذرات و توزیع آن است. پارامترهای مختلفی از جمله ترکیب فرمولاسیون، روش تولید و شرایط محیط (زمان، حرارت، فشار، تعداد سیکل، تجهیزات) بر روی اندازه ذرات تأثیرگذار است. نتایج میانگین اندازه ذرات و پتانسیل زتای فرمولاسیون ساخته شده در جدول ۲ می‌باشد.

برای تهیه نانوکپسول با اندازه قطرات پایدار، استفاده از سورفکتانت ضروری است. توین ۸۰ به دلیل سازگاری بالا با اجزای دیگر فرمولاسیون و سمیت پایین به عنوان سورفکتانت بی خطر در این فرمولاسیون استفاده شد. توین ۸۰ آب دوست و حلالیت بیشتری نسبت به اسانس دارد. برای تولید یک نانوکپسول پایدار باید در فرمولاسیون توازن بین ویژگی‌های آب دوستی و چربی دوستی باشد. این سورفکتانت غیر یونی و ملکول‌های بدون بار است و محصول بی خطر و زیست سازگار است و تحت تأثیر تغییرات pH قرار نمی‌گیرد (Nasseri *et al.*, 2016). با توجه به جدول ۲ و شکل ۲ اندازه نانوکپسول‌ها در این تحقیق ۸۴/۴۶ نانومتر بدست آمد. برای اهداف صنایع غذایی و پوشش‌های غذایی هر چقدر که اندازه ذرات کوچک تر باشد، بهتر است زیرا با کاهش اندازه ذرات، نسبت سطح به حجم، دسترسی زیستی و شفافیت محلول حاوی نانوکپسول افزایش می‌یابد (۱۷).

وجود ترکیبات فعال سطحی باردار مانند پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و سورفکتانت‌ها منجر به ایجاد بارهای الکتریکی متفاوت در سطح ذرات می‌شود. پتانسیل زتا درپایداری نانوکپسول‌ها اهمیت دارد هر چه مقدار پتانسیل زتا بیشتر باشد به معنی وجود نیروهای دافعه‌ی بیشتر بین ذرات و تمایل کمتر آن‌ها برای به هم چسبیدن است (Moghimi *et al.*, 2016). همچنین پتانسیل زتا شاخصی برای مقدار برهمکنش دافع بین ذرات‌کلوئیدی است. پتانسیل زتا درفرمولاسیون تهیه شده

۱۶- میلی‌ولت بود. بالا بودن پتانسیل زتای نانوذرات موجب بالا رفتن نیروی دافعـه الکترواسـتاتیک و درنتیجـه افـزایش پایـداری فیزیکـی سیستم می‌شود. هرچه پتانسیل زتا کمتر شود، نیروهای جاذبه بر دافعه غلبه کرده وذرات در کنار هم جمع می‌شوند (Razavi *et al*., 2019).

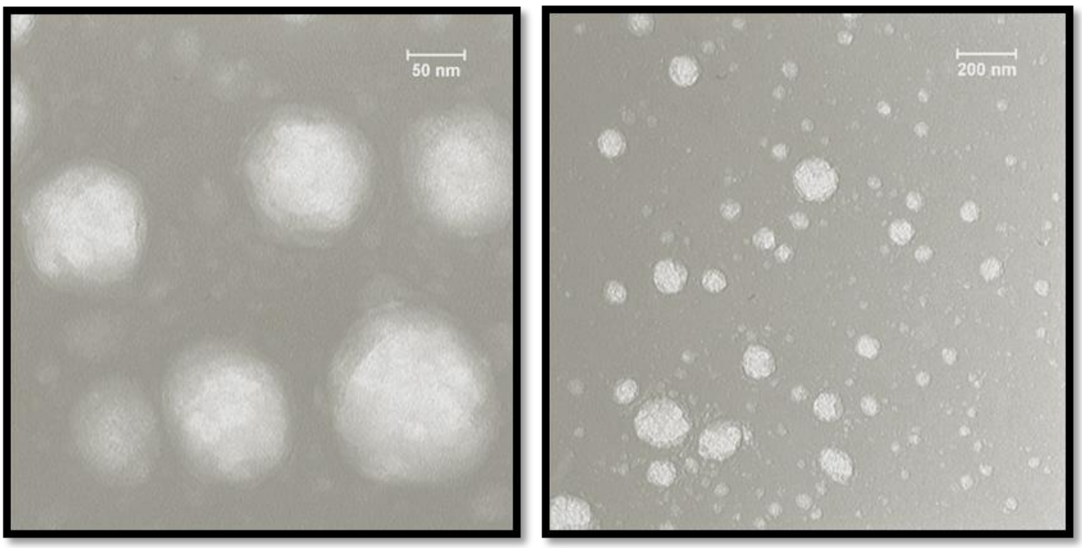


شکل ۲- توزیع اندازه ذرات نانوکپسول اسانس کاکوتی

Figure 2– Size distribution of nanocapsule particles of *Ziziphora tenuior* L. essential oil

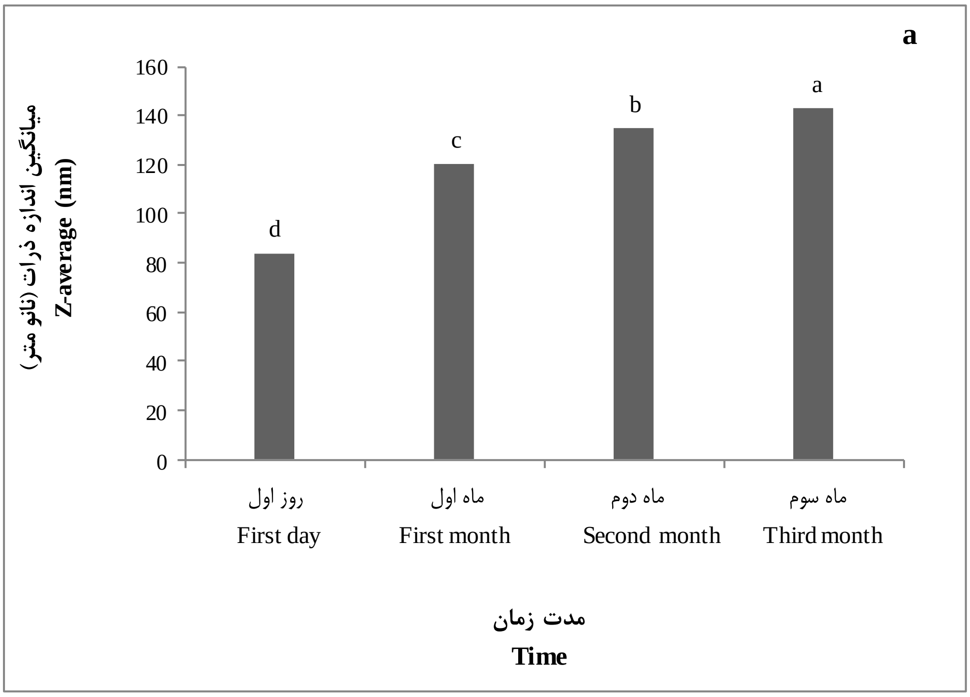
بررسی مورفولوژی نانوکپسول بامیکروسکوپ الکترونـی عبوری

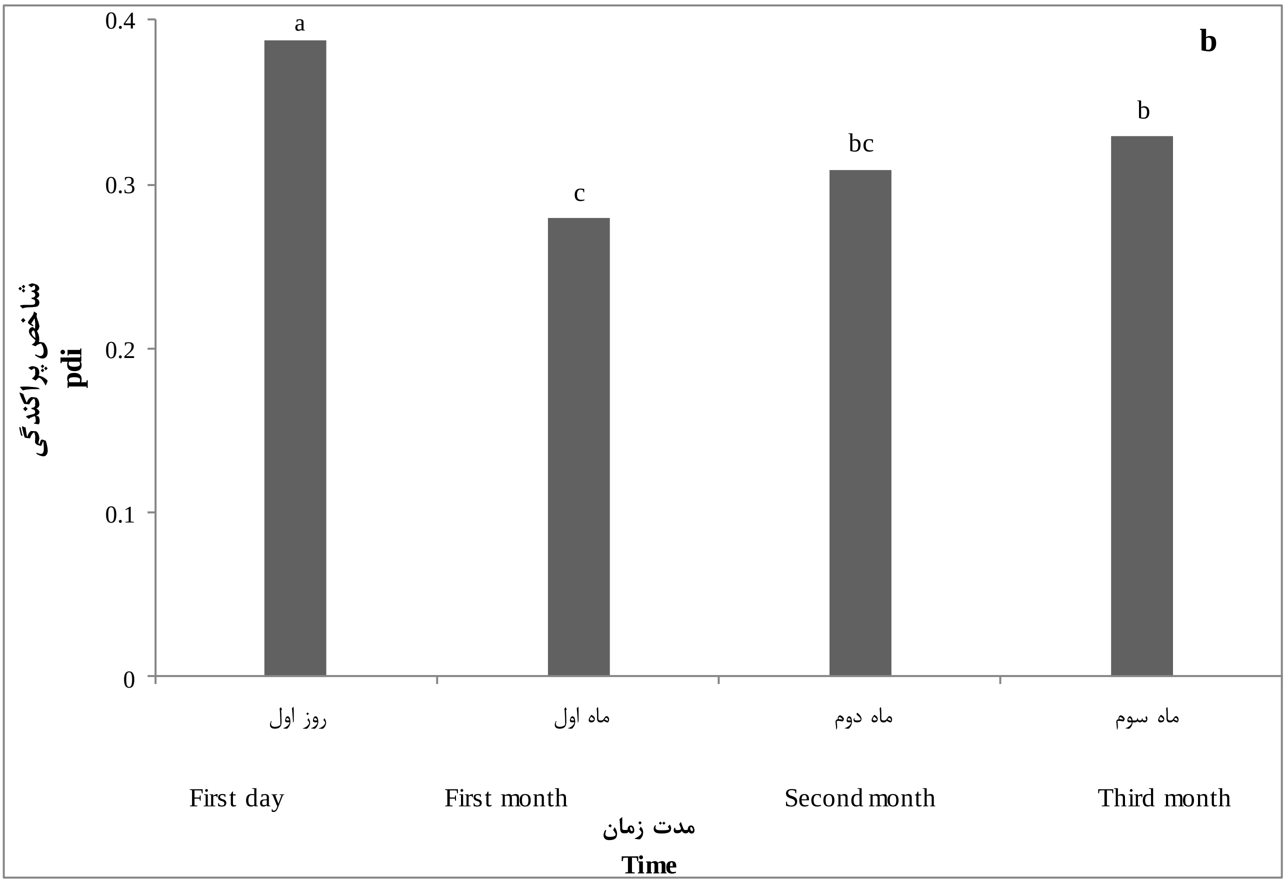
نتـایج حاصـل از عکـس‌هـای میکروسـکوپ الکترونـی عبـوری (TEM) نشان دادکه اندازه ذرات کمتـر از ۲۰۰نـانومتر بـوده و شـکل ذرات تقریبا کروی است (شکل ۳). سـطح خـارجی‌کپسـول‌هـا کـاملاً صاف و یکنواخت است. کروی بودن نانوکپسـول بیشـترین توانـایی را جهت آزادسازی کنترل شده و محافظت از اسانس احتباس یافته دارد. شکل کروی نسبت به سـایر اشـکال نـانو ذرات دارای طـولانی‌تـرین مسیر جهت حرکت اسانس محبوس شده است و کمترین سطح تماس با محیط آبی دارد (Nasseri *et al*., 2016).

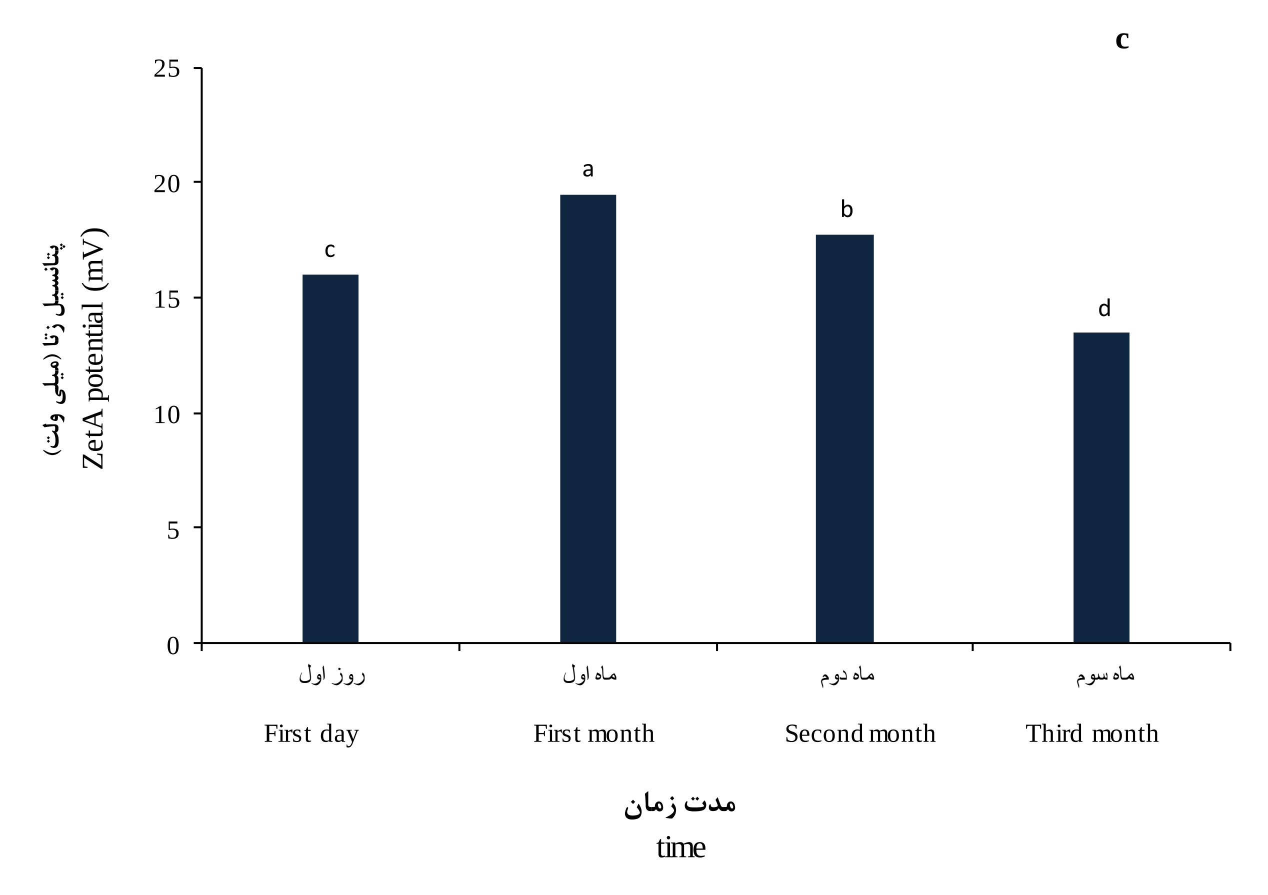


شکل ۳- عکس میکروسکوپ الکترونی TEM نانوکپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس کاکوتی

Figure 3– TEM electron microscope image of nanocapsule of *Aloe vera* gel containing *Ziziphora tenuior* L. essential oil


a
میانگین اندازه ذرات (نانو متر)
Z-average (nm)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
d
c
b
a
روز اول
First day
ماه اول
First month
ماه دوم
Second month
ماه سوم
Third month
مدت زمان
Time


b
شاخص پراکندگی
pdi
0.4
0.3
0.2
0.1
0
a
c
bc
b
روز اول
ماه اول
ماه دوم
ماه سوم
First day
First month
Second month
Third month
مدت زمان
Time



شکل ٤- پایداری میانگین اندازه ذرات (a)، شاخص پراکندگی (b) و پتانسیل زتا (c) در نانوکپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس کاکوتی در مدت سه ماه پس از تهیه

Figure 4- Stability of mean particle size (a), dispersion index (b) and zeta potential (c) in the nanocapsule of *Aloe vera* gel containing *Ziziphora tenuior* L. essential oil for three months after preparation (Duncan Test, *p≤0.05*)

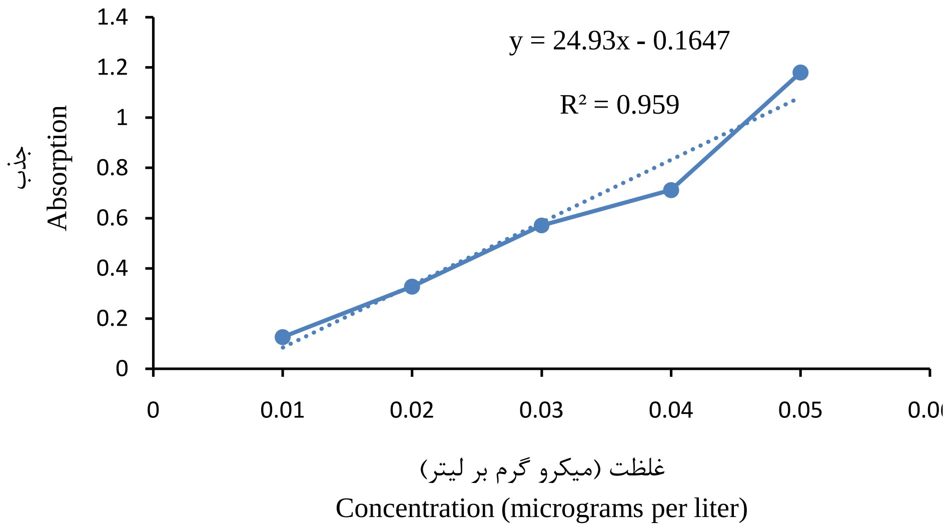
بررسی پایداری نانوکپسول

پایداری میانگین اندازه ذرات، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی مربوط به فرمولاسیون نانوکپسول ژل آلوئه ورا حاوی اسانس‌کاکوتی برای‌مدت سه ماه بررسی شد. با توجه به شکل اندازه ذرات پس از ۳ ماه، پایداری مناسبی داشتند، این افزایش در اندازه ذرات، طبیعی می‌باشد زیرا پتانسیل زتا بعد از ۳ ماه کاهش یافت که همین موضوع باعث کاهش دافعه‌ی بین ذرات می‌شود و در نهایت ذرات به هم متصل می‌شود و اندازه آن ها افزایش می‌یابد (شکل ۴). با این حال در این فرمولاسیون پتانسیل زتا حدود ۱۶- میلی ولت بود که به علت بخش‌های غیر یونی سورفاکتانت در سطح نانوکپسول می‌باشد که به نیروی دافعه کمک می‌کند وباعث پایداری اندازه نانوکپسول‌ها شد.

در مطالعه‌ای نانوامولسیون حاوی اسانس رزماری تهیه شد که اندازه نانو ذرات برای مدت یک ماه پایداربود و کمتر از ۲۰۰ نانومتر بود. در تحقیق شهاوی و همکاران (Shahavi *et al.*, 2019) نانوامولسیون حاوی اسانس میخک تهیه شد که اندازه ذرات ۴۳ نانومتر بود و اندازه ذرات بعد از ۶ ماه ۱۰۰ نانومتر بود.

تعیین کارایی درون پوشانی

به منظور تعیین مقدار اسانس موجود در نانوکپسول از روش اسپکتروفتومتراستفاده شد و برای رسم نمودار استاندارد، درصدهای مختلفی از اسانس کاکوتی را با طول موج ۳۹۹ نانومتر بادستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و مقدار اسانس احتباس یافته محاسبه شد. درصد احتباس یافته اسانس درون نانوامولسیون ۸۳/۲۵ درصد محاسبه شد (شکل ۵).



شکل ۵- منحنی استاندارد اسانس کاکوتی برای تعیین میزان اسانس محبوس شده در نانوکپسول

Figure 5- Standard curve of *Ziziphora tenuior* L. to determine the amount of essential oil trapped in the nanocapsule

نتیجه‌گیری

پوشش‌های خوراکی یکی از نوآورانه‌ترین روش‌ها برای حفظ کیفت و افزایش ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات تازه است. از طرف دیگر پوشش‌دهی میوه باعث کوچکتر شدن قطر منافذ تنفسی سطح میوه و کاهش نفوذپذیری آن نسبت به اکسیژن و آب شده در نتیجه، فعالیت آنزیمی میوه کمتر خواهد بود و فاسد شدن میوه به تعویق خواهد افتاد. اسانس‌های گیاهی ترکیبات فراری هستند که از بخش‌های مختلف گیاه (ریشه، گل، دانه، برگ، چوب یا میوه) بدست می‌آیند. از موارد محدودکننده استفاده ازاسانس‌ها می‌توان به عدم انحلال پذیری‌آن‌ها در آب و عدم پایداری آن‌ها اشاره کرد. پیشرفت‌ها در حوزه نانوتکنولوژی راه‌حل‌هایی در این زمینه فراهم نموده است. استفاده از نانوکپسول اسانس‌های گیاهی از طریق پوشش دادن در روی میوه جهت افزایش طول عمر ماندگاری محصولاتی مانند سبزی و میوه می‌شود. کاهش اندازه ذرات سبب افزایش کارایی مواد تشکیل دهنده پوشش می‌شود. در پژوهش حاضر نانوکپسول با مواد طبیعی و زیست تجزیه‌پذیر (ژل آلوئه ورا) که حاوی اسانس کاکوتی بود تهیه شد و نتایج نشان داد که اسانس کاکوتی با موفقیت در نانوامولسیون ژل آلوئه ورا کپسوله شد و برای مدت ۳ ماه ماندگاری مناسبی داشت.

منابع

1- Adams, R.P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Vol. 456, pp. 544-545). Carol Stream: Allured publishing corporation.

2- Aswathanarayan J.B., & Vittal R.R. (2019). Nanoemulsions and their potential applications in food industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 3: 95. https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00095.

3- Choi, S., & Chung, M.H. (2003, March). *A review on the relationship between Aloe vera components and their biologic effects*. In Seminars in integrative medicine (Vol. 1, No. 1, pp. 53-62). WB Saunders.

4- Davidson, P.M., & Zivanovic, S. (2003). *The use of natural antimicrobials*. In: Foodpreservation techniques. Woodhead Publishing(pp. 5-30). Woodhead Publishing.

5- Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., & Galotto, M.J. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus* indica) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry 91*(4): 751-756. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.002.

7- Jafari, S.M., Beheshti, P., & Assadpour, E. (2013). Emulsification properties of a novel hydrocolloid (Angum gum) for d-limonene droplets compared with Arabic gum. *International Journal of Biological Macromolecules* 61: 182-188. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.028.

7- Karimi Sani, I., Alizadeh, M., Pirsa, S., & Moghaddas Kia, E. (2019). Impact of operating parameters and wall material components on the characteristics of microencapsulated *Melissa officinalis* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal 34*(2): 104-112. https://doi.org/10.1002/ffj.3482.

8- Martínez-Romero, D., Alburquerque, N., Valverde, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., & Serrano, M. (2006). Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: a new edible coating. *Postharvest Biology and Technology 39*(1): 93-100. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.09.006.

9- Moghimi, R., Ghaderi, L., Rafati, H., Aliahmadi, A., & McClements, D.J. (2016). Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food Chemistry* 194: 410-415. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.139.

10- Nasseri, M., Golmohammadzadeh, S., Arouiee, H., Jaafari, M. R., & Neamati, H. (2016). Antifungal activity of Zataria multiflora essential oil-loaded solid lipid nanoparticles in-vitro condition. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences 19*(11): 1231-1237. https://doi.org/10.22038/ijbms.2016.7824.

11- Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M., & McClements, D.J. (2015). Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin E delivery systems using natural biopolymers: Whey protein isolate and gum arabic. *Food Chemistry* 188: 256-263.

12- Pirhayati, A., Gholami, M., Mirzakhani, A., & Khalilzadeh Ranjbar, G. (2019). Application of *Aloe vera* gel coating enriched with golpar essential oil on the shelf life of peach fruit) *Prunus persica* var, Zafarani. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 13*(4): 75-88. http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2490-en.html.

13. Rastegae, M. (2019). Investigation of the Physical and Chemical Properties of *Zataria multiflora* Essential oil Nano Emulsions on the Preservation of *Agaricus Bispporus* Button Mushroom. *Journal of Food Science and Technology* (Iran) *16*(87): 79-86.

14- Shahavi, M.H., Hosseini, M., Jahanshahi, M., Meyer, R. L., & Darzi, G.N. (2019). Evaluation of critical parameters for preparation of stable clove oil nanoemulsion. *Arabian Journal of Chemistry 12*(8): 3225-3230. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.08.024.

15- Tadros T., Izquierdo P., Esquena J., & Solans C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* 108–109: 303–318. https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023.

16- Thumula, P. (2006). Studies on storage behaviour of tomatoes coated with chitosan-lysozyme films.

17- Wang, S. H., Smith, D., Cao, Z., Chen, J., Acosta, H., Chichester, J. A., & Baker Jr, J.R. (2019). Recombinant H5 hemagglutinin adjuvanted with nanoemulsion protects ferrets against pathogenic avian influenza virus challenge. *Vaccine 37*(12): 1591-1600. https://doi.10.1016/j.vaccine.2019.02.002.